

THESIS

MUNICH

1966

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUM EINFLUSS DER NARKOSE AUF DAS
FARBSTOFF-HYALURONIDASE-SPREADING

Manoutchehr Hedayat

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität

München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Experimentelle Untersuchungen
zum Einfluß der Narkose auf das
Farbstoff- Hyaluronidase- Spreading

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Manoutchehr Hedayat

aus

Rafsanċjan/Iran

München 1966

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Mathies

Mitberichterstatter: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Professor Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.1966

Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0128

Inhaltsverzeichnis

Problematik	7
Eigene Versuche	11
Methodik	11
Versuchsreihen	13
Statistische Auswertung	19
Diskussion	32
Zusammenfassung	36
Literaturverzeichnis	37

P r o b l e m a t i k

Die Hyaluronidasehemmung verschiedener klinisch antirheumatisch wirksamer Substanzen wurde von mehreren Autoren beschrieben.

Da bei wirkten die meisten der genannten Substanzen nur in vivo hyaluronidasehemmend, teilweise war in vitro nur in höchsten Dosen eine hyaluronidasehemmende Wirkung feststellbar. Es war damit anzunehmen, daß erst ein in vivo ablaufender Wirkungsmechanismus die Hyaluronidasehemmung auslöst.

MATHIES und Mitarbeiter haben versucht, diesen Wirkungsablauf aufzuklären und nehmen eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark laufende Wirkung an. Sie führten ihre Untersuchungen mit einem Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Test bei männlichen weißen Ratten durch. Es handelte sich um die gleiche Methodik, wie sie auch dieser Dissertation zugrunde gelegt wurde.

Untersucht wurden unter anderem Acetylsalicylsäure^{1,2}, Natriumsalicylat³, Phenylbutazon⁵, und dessen Derivate^{4,6,7} und Prednisolon^{8,9}.

Naturgemäß war es erforderlich, die Versuchstiere zu narkotisieren, wobei nach anfänglichem Ätherrausch Barbiturate verabfolgt wurden.

In einigen Versuchsreihen wurde auf den Ätherrausch verzichtet, weshalb Barbiturate allein zur Anwendung kamen.

Entsprechend den verschieden langen Versuchszeiten mußten dabei Evipan allein oder Evipan zusammen mit Luminal gegeben werden. Die Dosierung waren in allen Versuchsreihen 30 mg Evipan-Natrium oder 20 mg Evipan-Natrium mit 8,8 mg Luminal pro 100 g Tiergewicht. Da nicht ohne weiteres angenommen werden konnte, daß die Narkotisierung der Tiere ohne Einfluß auf das Farbstoff-Hyaluronidasespreading ist, sollte in der vorgelegten Arbeit untersucht werden, ob die Narkotisierung einen Einfluß auf die Hyaluronidase-Aktivität unter Anwendung der beschriebenen Methodik ausübt.

DOMENJOZ¹⁰ berichtet über Untersuchungen von WILHELM, nach denen Barbiturate das Hyaluronidase-Pfotenödem nicht beeinflussen.

Mehrere Autoren untersuchten den Einfluß von Äthernarkose auf den Katecholamingehalt der Nebenniere und auf Blutzuckergehalt, wobei dessen Abhängigkeit von einer Adrenalin-ausschüttung aus dem Nebennierenmark diskutiert wurde. So berichten FREY, HÜGIN und MAYRHOFER¹³ über eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels durch Äther auf Grund einer Adrenalinausschüttung infolge Stimulierung der Nebenniere, dagegen berichten SATO und DEGUCHI¹⁴ über eine unbedeutende Veränderung der Adrenalinausschüttung und des Blutzuckers. Einen Abfall des Katecholamingehaltes der Nebennieren bei Katzen durch Äther stellte EMERSON¹⁵ fest. Zu den gleichen Ergebnissen kamen ELMES und JEFFERSON¹⁶. Dagegen stellte LIPOVETSKAYA¹⁷ keinen deutlichen Effekt der Äthernarkose

auf den Katecholamingehalt der Nebenniere fest. KULINS und KIL¹⁸ berichten wiederum über einen Abfall des Katecholamingehaltes der Nebennieren unter Äthernarkose. RICHARDSON, WOODS, und RICHARDSON¹⁹ stellten eine Erhöhung von Adrenalin und Noradrenalin im arteriellen Blut nach Ätherinhalation fest. Desgleichen wurde von WATTS²⁰ bei Kaninchen ein bedeutender Anstieg des Katecholaminblutspiegels unter der Äthernarkose festgestellt. Bei Patienten, die präoperativ Äther erhielten, stellte PRICE²¹ eine auffallende Vermehrung des Noradrenalins bei nur leichter Erhöhung des Adrenalins im Blut fest.

Dagegen fand MICHAELIS²² bei Katzen und Hunden keinen deutlichen Einfluß der Äthernarkose auf den Katecholaminblutspiegel, wenn auch eine leichte Abnahme festgestellt wurde.

WEIL-MALHERBE²³ fand sogar eine Abnahme des Adrenalingehaltes nach Ätherinhalation.

Evipannarkotisierung schien nach SUZUKI, SAITO, und KABAYASHI²⁴ keinen sicheren Einfluß auf die Katecholaminsekretion oder den Zuckergehalt des Blutes zu haben.

Nach WEIL-MALHERBE²³ vermindern Barbiturate den Adrenalingehalt des Blutes, und nach WOODS, RICHARDSON, und BOZEMANN²⁵ vermindert Pentobarbital die Reaktionsfähigkeit des Nebennierenmarks.

Wenn auch die ausgeführten Untersuchungsergebnisse nicht einheitlich zu sein scheinen, so bestehen am besten doch An-

haltspunkte dafür, daß eine Narkotisierung mit Äther eine Nebennierenmarkaktivierung mit Freisetzung von Katecholamin bewirkt, während Barbiturate diese Wirkung nicht aufweisen.

Da andererseits nach Untersuchungen von MATHIES^{11,12} eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark eine Hyaluronidasehemmung bewirkt, besteht die Möglichkeit, daß eine Äthernarkotisierung ebenfalls einen hemmenden Einfluß auf das Hyaluronidase-Spreading ausübt, während eine Barbituratnarkose diesen Effekt nicht aufweist.

Nach Untersuchungen von MATHIES¹² wird der Effekt über das Nebennierenmark wirksamer hyaluronidasehemmender Substanzen durch Ganglionblocker aufgehoben.

Falls sich in den Untersuchungen dieser Arbeit ein hyaluronidasenemmender Effekt einer der Narkosesubstanzen herausstellen sollte, war deshalb zu versuchen, diese Wirkung durch einen Ganglionblocker zu beeinflussen.

Eigene Versuche

Methodik

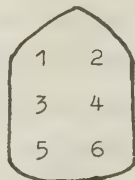
Es wurden männliche, weiße Ratten im Gewicht von 150-200 g verwendet. Die Hyaluronidasehemmung wurde mittels des Spreadingtestes gemessen und errechnet. Die Versuche wurden in Evipan-(30 mg Evipan-Natrium) und Evipan + Luminal(20 mg Evipan + 8,8 mg Luminal), sowie Evipan-(30 mg Evipan-Natrium) + Äthernarkose durchgeführt.

Es wurden zunächst intracutan je eine Farbstoffquaddel (F_1) mit 0,1 ccm einer 0,06 %igen Evensblaulösung und eine Farbstoff- + Hyaluronidasequaddel (FH_1) mit zusätzlich 7,5 I.E. Hyaluronidase gesetzt.

Zur Herstellung der Farbstoff- + Hyaluronidasequaddel wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin), enthaltend 150 I.E., in 2 ccm der genannten 0,06 %igen Evensblaulösung gelöst, sodaß bei der Injektion von 0,1 ccm 7,5 zur Wirkung kamen. Das Setzen der Quaddel erfolgte streng intracutan mit einer dünnen Kanüle in die mit Pilca enthaarte Bauchhaut. 10 Minuten nach der Injektion wurde die Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff-, sowie Farbstoffhyaluronidasequaddeln an der erreichten Ausbreitung registriert, indem die Konturen mittels eines Farbstiftes nachgezeichnet, auf einen Filmstreifen übertragen und planimetrisch ausgemessen wurde. Zwei weitere Quaddelpaare F_2, FH_2, F_3, FH_3 , wurden in verschiedenen Zeitabständen nach Narkotisierung gesetzt und ebenfalls nach 10 Minuten abgelesen. Bei den Ver-

suchen mit einem Ganglionblocker (Pendiomid) wurde nach Ablesen der ersten Quaddelpaare F_v, FH_v 10 Minuten nach Narkotisierung mit Evipan, die Vena femoralis freigelegt und 5 mg Pendiomid pro 100 g Tiergewicht i.v. gegeben und die weiteren Quaddelpaare F_1, FH_1, F_2, FH_2 nach bestimmten Zeitabständen nach Pendiomidgabe ebenfalls nach 10 Minuten abgelesen. Bei Versuchsreihen mit Äthernarkose erfolgte die Ätherinhalation erst dann, als die Narkosewirkung durch Evipan im Abklingen war und die Tiere langsam aufzuwachen begannen. Um etwaige Einflüsse der Lokalisation der Quaddel auf der Bauchhaut der Versuchstiere auf das Ergebnis der Versuche auszuschalten, wurden die Versuche im "Lateinischen Quadrat" durchgeführt. Hier wurde die Bauchhaut jedes Versuchstieres als ein Versuchsfeld mit 6 verschiedenen "Lokalisationen" angesehen.

Insgesamt wurden in jeder Versuchsreihe 6 Versuchstiere herangezogen, jedes Verfahren wird bei den einzelnen Tieren in der Weise anders lokalisiert, daß insgesamt bei den 6 Tieren jedes Verfahren in zufälliger Anordnung einmal bei jeder der 6 möglichen Lokalisationen angewandt wurde.



Schema der Lokalisationsmöglichkeiten

Versuchsreihe 1

Es wurden bei intakten Ratten reine Farbstoffquaddeln und Farbstoff- +Hyaluronidasequaddeln 40 Minuten (F_1, FH_1) nach der Evipannarkose (30 mg/100 g) gesetzt und deren Ausbreitung nach Ablauf von 10 Minuten gemessen. In weiteren Zeitabständen von 60 (F_2, FH_2) und 80 Minuten (F_3, FH_3) nach der Narkose wurden erneut Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten wieder abgelesen.

		Lokalisation					
		1	2	3	4	5	6
Tiere	1	F ₁	FH ₁	FH ₂	F ₃	FH ₃	F ₂
	2	F ₃	FH ₃	F ₂	FH ₁	FH ₂	F ₁
	3	FH ₁	FH ₂	F ₁	FH ₃	F ₂	F ₃
	4	FH ₃	F ₂	F ₃	FH ₂	F ₁	FH ₁
	5	FH ₂	F ₁	FH ₁	F ₂	F ₃	FH ₃
	6	F ₂	F ₃	FH ₃	F ₁	FH ₁	FH ₂

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddeln			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	40 Min. nach der	60 Min. Evipannarkoti-	80 Min. sierung	40 Min. nach der	60 Min. Evipannarkoti-	80 Min. sierung
1	115	140	137	173	203	180
2	127	119	119	150	188	176
3	130	150	136	194	190	171
4	141	132	102	164	179	158
5	130	118	130	176	171	155
6	132	132	129	167	193	162

Ergebnisse in Einzelwerten

T a b e l l e 1

(Versuchsreihe 1)

Versuchsreihe 2

Es wurden hier reine Farbstoffquaddeln und Farbstoff- +Hyaluronidasequaddeln 20 Minuten (F_1, FH_1) nach der Narkose mit 20 mg + Luminal 8,8 mg Evipan-Na gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten abgelesen. In weiteren Zeitabständen von 120 (F_2, FH_2) und 140 Minuten (F_3, FH_3) nach der Narkotisierung wurden erneut Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

	Lokalisation					
	1	2	3	4	5	6
Tiere	1	FH_1	FH_3	F_1	F_2	F_3
	2	F_3	F_2	FH_1	F_1	FH_2
	3	FH_3	F_1	F_3	FH_1	FH_3
	4	FH_3	FH_1	FH_2	F_3	F_2
	5	F_2	F_3	FH_3	FH_2	F_1
	6	F_1	FH_2	F_2	FH_3	FH_1

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddeln			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	20 Min. nach der Evipan-	120 Min. + Lumi-	140 Min. narkotisierung	20 Min. nach der Evipan-	120 Min. + Lumi-	140 Min. narkotisierung
1	145	134	122	175	179	172
2	132	110	114	178	188	155
3	130	128	128	177	191	158
4	123	110	136	171	156	164
5	124	120	110	162	156	140
6	110	114	119	130	166	159

Ergebnisse in Einzelwerten

Tabelle 2

(Versuchsreihe 2)

Versuchsreihe 3

Es wurden hier reine Farbstoffquaddeln und Farbstoff-Hyaluronidasequaddeln 100 Minuten (F_1, FH_1) nach der Evipannarkose (20 mg) mit Luminal-Zusatz-Narkose (8,8 mg) gesetzt und deren Ausbreitung nach Ablauf von 10 Minuten abgelesen. In weiteren Zeitabständen von 180 (F_2, FH_2) und 210 Minuten (F_3, FH_3) nach der Narkotisierung wurden erneut Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

		Lokalisation					
		1	2	3	4	5	6
Tiere	1	F ₁	F ₂	FH ₁	FH ₃	FH ₂	F ₃
	2	F ₃	FH ₃	FH ₂	F ₁	F ₂	FH ₁
	3	FH ₁	F ₁	F ₂	F ₃	FH ₃	FH ₂
	4	FH ₂	F ₃	FH ₃	FH ₁	F ₁	F ₂
	5	F ₂	FH ₁	F ₁	FH ₂	F ₃	FH ₃
	6	FH ₃	FH ₂	F ₃	F ₂	FH ₁	F ₁

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddeln			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	100 Min.	180 Min.	210 Min.	100 Min.	180 Min.	210 Min.
	nach der Evipan- +Luminalnarkotisierung			nach der Evipan- +Luminalnarkotisierung		
1	134	140	141	191	182	125
2	138	135	143	173	161	175
3	137	140	138	210	182	170
4	120	130	145	190	188	171
5	123	138	130	190	210	184
6	145	134	112	171	188	185

Ergebnisse in Einzelwerten

T a b e l l e 3

(Versuchsreihe 3)

Versuchsreihe 4

Es wurden reine Farbstoffquaddeln und Farbstoff- +Hyaluronid-asequaddeln 80 Minuten (F_1, FH_1) nach der Narkotisierung mit Evipan-Na (30 mg pro 100 g Tiergewicht) gesetzt und deren Ausbreitung nach 10 Minuten abgelesen. Nachdem die Tiere nach 90-100 Minuten nach der Narkotisierung sich im leichten Aufwachen befanden, wurde die Ätherzusatznarkose gegeben und in weiteren Zeitabständen von 120 (F_2, FH_2) und 140 Minuten (F_3, FH_3) (nach Evipannarkose) erneut Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

		Lokalisation					
		1	2	3	4	5	6
Tiere	1	F ₁	FH ₃	FH ₁	FH ₂	F ₂	F ₃
	2	FH ₂	FH ₁	F ₃	FH ₃	F ₁	F ₂
	3	FH ₃	F ₃	F ₂	FH ₁	FH ₂	F ₁
	4	FH ₁	F ₂	F ₁	F ₃	FH ₃	FH ₂
	5	F ₃	F ₁	FH ₂	F ₂	FH ₁	FH ₃
	6	F ₂	FH ₂	FH ₃	F ₁	F ₃	FH ₁

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddel			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	80 Min. nach Evipan	120 Min. nach Evipan mit Ätherzusatznar- kose	140 Min.	80 Min. nach Evipan	120 Min. nach Evipan mit Ätherzusatznar- kose	140 Min.
1	133	121	120	190	210	194
2	145	114	104	184	178	165
3	128	110	120	195	147	150
4	132	146	135	190	210	180
5	141	143	134	185	210	163
6	150	140	100	198	202	140

Ergebnisse in Einzelwerten
T a b e l l e 4
(Versuchsreihe 4)

Versuchsreihe 5

Nach Setzen und Ablesen der ersten reinen Farbstoff- und Farbstoff- +Hyaluronidasequaddeln (F_v, FH_v) nach Evipannarkose (30 mg pro 100 g Tiergewicht) wurde der Ganglionblocker Pendiomed in die Vena femoralis injiziert (5 mg pro 100 g Tiergewicht). 10 (F_1, FH_1) und 90 Minuten (F_2, FH_2) nach Pendiomid wurden weitere Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

		Lokalisation					
		1	2	3	4	5	6
Tiere	1	FH _v	F ₁	F _v	FH ₂	FH ₁	F ₂
	2	F _v	F ₂	F ₁	FH _v	FH ₂	FH ₁
	3	F ₁	FH ₁	F ₂	F _v	FH _v	FH ₂
	4	F ₂	FH ₂	FH ₁	F ₁	F _v	FH _v
	5	FH ₁	FH _v	FH ₂	F ₂	F ₁	F _v
	6	FH ₂	F _v	FH _v	FH ₁	F ₂	F ₁

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddeln			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	vor 10 Min. nach Pendiomed i.v.	90 Min.		vor 10 Min.	90 Min.	
1	126	110	139	156	158	189
2	111	131	116	161	181	158
3	156	146	155	196	181	158
4	110	102	110	152	150	160
5	126	103	190	177	155	167
6	131	125	130	166	165	160

Ergebnisse in Einzelwerten

Tabelle 5

(Versuchsreihe 5)

Versuchsreihe 6

Nach Setzen und Ablesen der ersten reinen Farbstoff- und Farbstoff- +Hyaluronidasequaddeln (F_v, FH_v) nach Evipannarkose (30 mg pro 100 g Tiergewicht) wurde der Ganglionblocker Pendiomid in die Vena femoralis injiziert (5 mg pro 100 g Tierkörpergewicht). 20 (F_1, FH_1) und 120 (F_2, FH_2) Minuten nach Pendiomid wurden weitere Quaddelpaare gesetzt und nach 10 Minuten abgelesen.

	Lokalisation					
	1	2	3	4	5	6
1	F_1	F_2	FH_2	FH_1	F_v	FH_v
2	FH_1	FH_v	F_2	F_v	FH_2	F_1
Tiere 3	F_v	F_1	FH_v	FH_2	F_2	FH_1
4	FH_2	FH_1	F_1	F_2	FH_v	F_v
5	F_2	F_v	FH_1	FH_v	F_1	FH_2
6	FH_v	FH_2	F_v	F_1	FH_1	F_2

Lokalisationsschema

Tier Nr.	Farbstoffquaddeln			Farbstoff-Hy'asequaddeln		
	vor	20 Min. nach Pendiomid	120 Min.	vor	20 Min. nach Pendiomid	120 Min.
1	130	120	132	206	180	181
2	116	129	146	166	160	190
3	120	146	110	170	177	180
4	128	160	137	180	210	210
5	150	135	130	210	180	190
6	115	134	122	210	170	205

Ergebnisse in Einzelwerten

T a b e l l e 6

(Versuchsreihe 6)

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist die Bestimmung der experimentellen Variabilität. Hierzu wird die Gesamt-Variabilität der Versuchsergebnisse in Einzelkomponenten zerlegt, wobei jede Einzelkomponente einem systematischen Faktor entspricht, der möglicherweise die Versuchsergebnisse beeinflusst hat. Dabei können allerdings nur solche systematischen Faktoren mit Hilfe der statistischen Analyse erfasst werden, die bereits bei der Planung der Versuche gehörig berücksichtigt wurden. Im Hinblick auf die Anlage der vorliegenden Versuche im "Lateinischen Quadrat" ist es möglich in der statistischen Analyse die nachstehenden Faktoren zu erfassen:

Individuelles Reaktionsniveau der Versuchstiere;
Wirkung der Beobachtungszeiten;
systematischer Einfluß der Lokalisation auf der
Bauchhaut.

Zur Bestimmung der Variabilitäten, die zu diesen systematischen Faktoren gehören, bedienen wir uns einer mehrfachen Varianz-Analyse. Dieser Varianz-Analyse liegt ein lineares statistisches Modell zugrunde, bei dem angenommen wird, daß sich die Wirkung der einzelnen Faktoren in additiver Form unabhängig überlagert. Der Einfluß, den die einzelnen systematischen Faktoren auf die Gesamt-Variabilität haben, ergibt sich in der Varianz-Analyse in Form von "Varianz-Komponenten",

die den einzelnen systematischen Faktoren zugeordnet sind. Die Schätzung der experimentellen Variabilität liefert die Varianz-Analyse in Form der "Rest-Varianz". Diese Bezeichnung bringt bereits zum Ausdruck, daß die experimentelle Variabilität als derjenige Anteil der Gesamt-Variabilität ermittelt wird, der sich nicht mehr durch den Einfluß der beobachteten systematischen Faktoren erklären lässt.

Primär war zu untersuchen, ob ein systematischer Faktor einen statistisch gesicherten Einfluß auf die Versuchsergebnisse besitzt. Dies ist nur dann der Fall, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch gesichert größer ist als die experimentelle Variabilität (Rest-Varianz). Ob dies der Fall ist, wird in der Varianz-Analyse durch einen Vergleich dieser beiden Varianz-Komponenten mit Hilfe des F-Tests geprüft.

Entsprechend der Fragestellung, die den Versuchen zugrunde lag, interessierte hier primär nur der Einfluß, den die Beobachtungszeiten auf die Diffusionsgeschwindigkeit der beiden Quaddel-Typen ausüben. Es war somit für jeden Quaddel-Typus einzeln zu prüfen, ob zwischen den einzelnen Beobachtungszeiten statistisch gesicherte Unterschiede in der Ausbreitung des Spreadings vorliegen. Diesen Fragestellungen entspricht in der Varianz-Analyse je eine "orthogonale Komponente" der Varianz-Komponente, die zu dem systematischen Faktor "Versuchs-Zeiten" gehört. Ein statistisch gesicherter Un-

terschied in der Größe des Spreadings im Ablauf der Narkosen liegt für einen Quaddel-Typus nur dann vor, wenn die zugehörige Varianz-Komponente statistisch gesichert größer ist als die experimentelle Variabilität. Ob dies zutrifft, wird in der Varianz-Analyse ebenfalls mit Hilfe des F-Tests geprüft.

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse ist zu berücksichtigen, daß die absolute Größe eines Quaddel-Typus sehr stark von den jeweiligen Tieren der Versuchsreihe abhängt. Es ist daher wenig sinnvoll, die Ergebnisse der Versuche nach der absoluten Größe der einzelnen Quaddeln zu beurteilen; vielmehr ist es nur sinnvoll die Unterschiede zwischen je zwei verschiedenen Beobachtungszeitpunkten zu berücksichtigen. Dies geschieht in dem linearen statistischen Modell, das der Varianz-Analyse zugrunde liegt: Es wird hier nur die Hypothese geprüft, daß der Spreading eines Quaddel-Typus zu den drei verschiedenen Zeitpunkten einer Versuchsreihe sich nicht verändert. Ist diese Hypothese zu verwerfen, so erhebt sich die Frage, in welcher Weise sich das Spreading zu verschiedenen Zeitpunkten einer Versuchsreihe unterscheidet. Es ist hierzu notwendig, eine "Schätzung" für die Unterschiede zwischen den einzelnen Zeitpunkten zu gewinnen. Dies kann in folgender Weise geschehen: Es sei $\bar{x}(t)$ das arithmetische Mittel aller Meßwerte, die für einen Quaddel-Typus zu dem Zeitpunkt beobachtet wurde. Die Differenz zwischen den Mittelwerten, die zu zwei verschiedenen Zeitpunkten gehören, ist dann eine

optimale Schätzung für den Unterschied in dem Spreading zu diesen beiden Zeitpunkten. Im Prinzip prüft somit die Varianz-Analyse nur, ob zwischen diesen Mittelwerten statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, wobei allerdings berücksichtigt wird, daß diese Mittelwerte noch von bestimmten systematischen Faktoren abhängen.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in den Tabellen 1-4 wiedergegeben. Im oberen Teil dieser Tabellen ist für jede Versuchsreihe das Ergebnis der zugehörigen Varianz-Analyse angeführt; im unteren Teil finden sich für jeden Quaddel-Typus und jede Beobachtungszeit die zugehörigen Mittelwerte $\bar{x}(t)$. Außerdem haben wir die empirische Varianz s^2 zwischen den Meßwerten einer Beobachtungszeit angegeben.

In dem Schemata der Varianz-Analysen bedeutet:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
- $F_{\text{emp.}}$: den Varianz-Quotienten zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz);
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Ein statistisch gesicherter Unterschied in der Größe des Spreadings eines Quaddel-Typus zu verschiedenen Beobachtungszeiten liegt nur dann vor, wenn der zugehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit besitzt, die nicht größer als 5 % ist. Von einer ausreichenden statistischen Sicherung kann allerdings erst dann gesprochen werden, wenn die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten sogar kleiner als 1 % ist. Bei der Interpretation der Ergebnisse der Varianz-Analysen ist dieser Sachverhalt zu berücksichtigen.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Nach den Ergebnissen der Versuchsreihe 1 zeigen sich unter Evipan-Narkose statistisch gesicherte Unterschiede im Spreading der Farbstoff-Hyase-Quaddeln zwischen Beobachtungszeiten 40', 60" und 80", zum Zeitpunkt 60" ist die größte Ausbreitungsgeschwindigkeit zu beobachten; zu den Zeitpunkten 40' und 80' ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyase-Quaddeln annähernd gleich (s. die Mittelwerte $\bar{x}(t)$, Tabelle 1). Die reinen Farbstoff-Quaddeln dieser Versuchsreihe weisen die entsprechende Tendenz auf; eine statistische Sicherung für die hier beobachteten Unterschiede in den Mittelwerten konnte allerdings nicht erreicht werden, da die Effekte zu klein sind. Auf Grund der Ergebnisse der vorliegenden Versuchsreihe muß somit angenommen werden, daß die "Narkose-Tiefe" einen Einfluß auf das Spreading der Farbstoff+Hyase-Quaddel und in gewissem Maße auch auf das

jenige der reinen Farbstoff-Quaddel hat.

In den beiden Langzeit-Versuchen mit Luminal-Zusatznarkose konnten keine statistisch gesicherten Unterschiede im Spreading der reinen Farbstoff-Quaddel und ebensowenig in demjenigen der Farbstoff+Hyase-Quaddeln zwischen den einzelnen Beobachtungszeiten festgestellt werden.

Berücksichtigt man die Ergebnisse der Versuchsreihe 1 einerseits und diejenigen der Versuchsreihen 2 und 3 andererseits, so hat es den Anschein, als ob die Veränderungen, die in der Versuchsreihe 1 im Spreading der Farbstoff+Hyase-Quaddel beobachtet wurde, im wesentlichen ein "Aufwach-Effekt" ist. Es wäre somit zu diskutieren, ob bei den Versuchen, die über einen Zeitraum von 40 Minuten hinausgehen, nicht bereits eine Narkose mit Evipan+Luminal angewendet werden sollte.

In den Versuchsreihen 4 (Evipan-Narkose mit Äther-Zusatznarkose) zeigen sich statistisch hoch gesicherte Unterschiede im Spreading der Farbstoff-Hyase-Quaddel zwischen den verschiedenen Zeitpunkten. Zu dem Zeitpunkt 140' nach Beginn der Narkose ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Farbstoff+Hyase-Quaddel statistisch gesichert kleiner als zu den beiden anderen Zeitpunkten 80' und 120'. Betrachtet man die 4 Versuchsreihen insgesamt so fällt auf, daß immer zu den spätesten Zeitpunkten einer Versuchsreihe die Ausbreitungs-

geschwindigkeit der Farbstoff-Hyase-Quaddel den kleinsten Wert besitzt. Ein entsprechendes Phänomen liegt auch bei der reinen Farbstoff-Quaddel vor; allerdings ist es hier nicht so deutlich ausgeprägt. Dieser systematische Effekt läßt daran denken, daß es sich hierbei um einen "Aufwach-Effekt" handelt, d.h. daß mit dem Nachlassen der Narkosetiefe eine Verringerung im Spreading der Quaddeln verbunden ist. Ob diese Interpretation auch physiologisch haltbar ist, müßte diskutiert werden. Immerhin deuten die Versuche darauf hin, daß es sinnvoll ist, die Tiere immer in einer Tiefnarkose zu halten, um gleichmäßige Ergebnisse im Spreading zu erzielen.

Bei der Prüfung des Einflusses von Pendiomid auf das Verhalten des Hyaluronidase-Spreadings nach Evipan-Narkose zu den Zeiten 10 min., 20 min., 90 min., und 120 min. nach Pendiomid-Applikation ergab die statistische Auswertung, daß für keine der beiden Quaddel-Typen eine statistisch faßbare Abweichung zu den Versuchszeiten gegenüber den zugehörigen Leerwerten vorliegt.

E V I P A N

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	5	1.366	273*2	2*51	-
Zw. Lokalisationen	5	637	127*4	1*17	-
Zwischen Zeiten	5	20.713	4.142*6	38*11	0*1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	19.182	19.182*0	100*00	0*1 %
Zw. Farbstoff-Quaddeln	2	121	60*5	-	
Zw. Hyase-Quaddeln	2	1.409	704*5	6*48	1*0 %
Rest - Varianz	20	2.175	108*7		
Gesamt - Varianz	35	24.891	711*2		

	n	$\bar{x}(t)$	s ²
E _{40'}	6	129	71*0
E _{60'}	6	132	150*6
E _{80'}	6	125	173*8
H _{40'}	6	171	212*6
H _{60'}	6	187	124*2
H _{80'}	6	167	103*2

T a b e l l e 7

(Versuchsreihe 1)

E V I P A N + L U M I N A L

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	5	2.232	446*4	3*59	5*0 %
Zw. Lokalisationen	5	343	68*6	-	
Zwischen Zeiten	5	17.178	3.435*6	27*66	0*1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	16.341	16.341*0	100*00	0*1 %
Zw. Farbstoff-Quaddel	2	206	103*0	-	
Zw. Hyase-Quaddel	2	631	315*0	2*54	-
Rest - Varianz	20	2.484	124*2		
Gesamt - Varianz	35	22.237	635*3		

	n	$\bar{x}(t)$	s ²
E _{20'}	6	127	134*2
E _{120'}	6	119	98*6
E _{140'}	6	121	89*4
H _{20'}	6	165	336*2
H _{120'}	6	172	239*8
H _{140'}	6	158	113*2

T a b e l l e 8
=====

(Versuchsreihe 2)

E V I P A N + L U M I N A L

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	5	513	102°6	1°14	-
Zw. Lokalisationen	5	1.699	339°8	3°77	5°0 %
Zwischen Zeiten	5	22.362	4.472°4	49°58	0°1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	22.152	22.152°0	100°00	0°1 %
Zw. Farbstoff-Quaddel	2	34	17°0	-	
Zw. Hyase-Quaddel	2	177	88°5	-	
Rest - Varianz	20	1.805	90°2		
Gesamt - Varianz	35	26.379	753°7		

	n	$\bar{x}(t)$	s ²
E _{100'}	6	133	91°0
E _{180'}	6	136	15°4
E _{210'}	6	135	152°6
H _{100'}	6	187	202°6
H _{180'}	6	185	247°4
H _{210'}	6	180	94°4

T a b e l l e 9

=====

(Versuchsreihe 3)

E V I P A N + Ä T H E R

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	5	2.568	513*6	3*01	5*0 %
Zw. Lokalisationen	5	2.071	414*2	2*43	-
Zwischen Zeiten	5	30.303	6.060*6	35*59	0*1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	26.406	26.406*0	100*00	0*1 %
Zw. Farbstoff-Quaddeln	2	1.122	561*0	3*30	-
Zw. Hyase-Quaddeln	2	2.775	1.387*5	8*15	1*0 %
Rest - Varianz	20	3.407	170*3		
Gesamt - Varianz	35	38.349	1.095*7		

	n	$\bar{x}(t)$	s^2
E _{80'}	6	138	72*6
E _{120'}	6	129	251*2
E _{140'}	6	119	213*8
H _{80'}	6	190	29*8
H _{120'}	6	193	657*8
H _{140'}	6	165	683*8

T a b e l l e 10

=====

(Versuchsreihe 4)

PENDIOMID nach Evipannarkose

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	Temp	p
Zwischen Tieren	5	6.832'47	1.366'49	22'56	0'1 %
Zw. Lokalisationen	5	834'47	166'89	2'75	5'0 %
Zwischen Zeiten	5	18.059'81	3.611'96	59'62	0'1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	17.644'69	17.644'67	100'00	0'1 %
Zw. Farbstoff-Quaddeln	2	286'33	143'17	2'36	-
Zw. Hyase-Quaddeln	2	128'78	64'39	1'06	-
Rest - Varianz	20	1.211'56	60'58		
Gesamt - Varianz	35	26.938'31	769'67		

	n	$\bar{x}(t)$	s^2
E_v	6	127	280'7
$E_{10'}$	6	120	306'7
$E_{90'}$	6	129	243'4
H_v	6	168	263'6
$H_{10'}$	6	167	267'8
$H_{90'}$	6	173	413'6

T a b e l l e 11

=====

(Versuchsreihe 5)

PENDIOMID nach Evipannarkose

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	Femp	p
Zwischen Tieren	5	2.026'14	405'23	1'91	-
Zw. Lokalisationen	5	772'47	154'49	-	
Zwischen Zeiten	5	29.853'81	5.970'76	28'22	0'1 %
Zw. Quaddel-Typen	1	28.956'69	28.956'69	100'00	0'1 %
Zw. Farbstoff-Quaddeln	2	304'78	152'39	-	
Zw. Hyase-Quaddeln	2	592'33	296'17	1'40	
Rest - Varianz	20	4.231'89	211'59		
Gesamt - Varianz	35	36.884'31	1.053'84		

	n	$\bar{x}(t)$	s^2
E_v	6	127	170'3
$E_{20'}$	6	136	221'1
$E_{120'}$	6	130	154'3
H_v	6	190	426'3
$H_{20'}$	6	180	281'5
$H_{120'}$	6	193	152'7

Tabelle 12

=====

(Versuchsreihe 6)

D i s k u s s i o n

Die Untersuchungsergebnisse der Versuchsreihe 1 zeigen, daß trotz der schwachen statistischen Sicherung unter einer Evipannarkose keine wesentliche Abweichung der Quaddelgröße zu den Bestimmungszeiten vorliegen. Da die Untersuchungen an nicht narkotisierten Tieren verständlicherweise nicht möglich sind, konnte ein Vergleich mit den Werten vor Beginn der Narkose naturgemäß nicht durchgeführt werden.

Die größten Differenzen der Farbstoff-Hyaluronidasequaddeln während der Evipannarkose betrugen 20 qmm, wobei zu berücksichtigen ist, daß diese Differenz bei Ende des Versuches beobachtet wurde, als bei einigen Tieren bereits das Ende der Narkosewirkung festzustellen war. Da bei der Prüfung der hyaluronidasehemmenden Substanzen Differenzen von 20 qmm noch keinen deutlichen Effekt beweisen, kann behauptet werden, daß die Versuchsergebnisse bei der Untersuchung der hyaluronidasehemmenden Substanzen nicht auf einen Narkoseeffekt im Sinne einer Fehlinterpretation bezogen werden können. Das gilt zumindest für Untersuchungen bis zu einer Versuchsdauer von 80 Minuten nach Beginn der Narkotisierung der Ratten mit 30 mg Evipan-Natrium pro 100 g Tiergewicht. Auch unter einer Narkose mit Evipan + Luminal wurden keine erheblichen Schwankungen beobachtet. Hier wurden als größte Differenz ein Wert von 14 qmm gemessen, wobei die Differenzen statistisch nicht gesichert werden konnten. Da die Untersuchung

über einen Zeitraum von 210 Minuten durchgeführt wurde, erweist sich die Narkose mit 20 mg Evipan + 8,8 mg Luminal pro 100 g Tiergewicht als geeignet für Versuche über einen längeren Zeitraum, um hyaluronidasehemmende Effekte hyaluronidasehemmende Substanzen festzustellen.

Anders liegen die Verhältnisse beim Übergang einer Evipan-narkose in eine Äthernarkotisierung.

In diesen Versuchen wurde die Narkose mit Evipan bei Abklingen der Wirkung nach Ätherinhalation fortgesetzt.

Der Übergang von der Evipan - auf die Äthernarkotisierung erfolgte dabei etwa 75-100 Minuten nach Evipanjektion. Zu diesem Zeitpunkt begannen die Tiere aus der Vollnarkose langsam zu erwachen und unruhig zu werden. 120 Minuten nach Beginn der Evipan-Injektion war keine Differenz der Größe der Farbstoffflächen sichtbar, wogegen nach 140 Minuten eine deutliche Verringerung der Farbstoffausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln von 28 mm zu beobachten war. Diese Differenz war statistisch hoch gesichert.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse kann gesagt werden, daß die Farbstoffausbreitung unter einer Äthernarkose gegenüber einer Barbituratnarkotisierung geringer zu sein scheint.

Da diese Beobachtung erst nach einem gewissen Zeitabstand nach Beginn der Ätherinhalation gemacht wurde, ist zu vermuten, daß die Ätherwirkung eine Hemmung der Hyaluronidase-aktivität bewirkt, und daß nicht die Barbituratnarkose die Farbstoffausbreitung auf ein höheres Niveau einstellt, auf

dem dann wiederum der Effekt hyaluronidasehemmender Substanzen gemessen werden kann.

Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß Untersuchungen mit dem Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadingtest nicht in Äthernarkose durchgeführt werden sollten.

Da nach MATHIES^{11,12} die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität über einer Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark mit vorübergehender Erhöhung des Katecholaminspiegels erfolgt, stimmen die gefundenen Ergebnisse mit den eingangs erwähnten Befunden eines Abfalls des Katecholamingehaltes des Nebennierenmarks sowie eines Anstiegs des Katecholaminspiegels durch Äther überein. Auch diese Übereinstimmung spricht für eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Äther.

Schließlich haben wir Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der Farbstoffausbreitung in Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading unter Evipannarkose durch den Ganglionblocker Pendiomid untersucht.

Es zeigte sich, daß Pendiomid keinen Einfluß auf die unter Evipannarkose konstante Farbstoffausbreitung ausübt. Auch bei Ausklingen der Narkosewirkung bis 120 Minuten nach Evipaninjektion wurden keine Abweichung der Werte gemessen.

Da Ganglionblocker die Hyaluronidasehemmung entsprechend wirksamer Substanzen aufhebt, spricht die Konstanz in der genannten Versuchsreihen dafür, daß Barbiturate keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität über eine Nebennierenmark-

aktivierung bewirken.

Auch durch diese Versuche wurde deutlich, daß sich Barbiturate zur Narkotisierung für Versuche mit dem Farbstoff-Hyaluronidasetest eignen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Da Untersuchung in Tierversuch über den hyaluronidasehemmenden Effekt bestimmter Substanzen unter Anwendung eines Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadingtest in Evipan- bzw. Evipan + Luminalnarkose durchgeführt werden, wurden der Einfluß solcher Barbituratnarkosen auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading untersucht.

Eine eindeutige Beeinflussung durch Barbiturate wurde nicht gefunden. Dagegen hat eine Äthernarkotisierung einen deutlichen hemmenden Einfluß auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading.

Äthernarkosen erweisen sich damit als ungeeignet für Versuche zum Nachweis eines hyaluronidasehemmenden Effektes entsprechend wirkenden Pharmaka.

Auch Untersuchungen über Einfluß eines Ganglionblockers unter einer Evipannarkose auf das Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading zeigten keinen Effekt.

Auf Grund bereits vorliegender Befunde beweist auch dieser Versuch, daß eine hyaluronidasehemmende Wirkung der Barbiturate durch eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark nicht vorliegt.

Dagegen scheint der hemmende Einfluß der Äthernarkose auf eine Katecholaminfreisetzung aus dem Nebennierenmark zu beruhen.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

- 1) Mathies, H. u. Jankowski, A. : Klin. Wochr. 35, 892 (1957)
- 2) Mathies, H. : Med. Wschr. 11, 791 (1957)
- 3) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J., u. Schmidt, D. :
Med. Exp. 1, 64 (1959)
- 4) Mathies, H., Batisweiler, T., Kreiselmeier, G. u. Will, E. :
Arzneimittelforsch. 10, 484 (1960)
- 5) Biechele, I. u. Hartmann, M. : Ärztli. Forsch. XIV I/160
(1960)
- 6) Mathies, H., Scholze, H. : Arzneimittelforsch. 12, 79
(1962)
- 7) Mathies, H. : Med. Exp. 6, 88 (1962)
- 8) Mathies, H. : Zschr. ges. Exp. Med. 131, 118 (1959)
- 9) Mathies, H., Bosiljanoff, A., Pirkel, F. u. Schüle, V. :
Ärztli. Forsch. XVII, 147 (1964)
- 10) Domenjoz, R. : Arch. Exp. Path. Pharmacol. 265, 14 (1955)
- 11) Mathies, H. : Verb. Dtsch. Ges. f. Inn. Med. 64. Kongr.
(1958)
- 12) Mathies, H. : Verb. Dtsch. Ges. f. Inn. Med. 65. Kongr.
(1959)
- 13) Frey-Hügin-Mayrhofer : Lehrbuch der Anästhesiologie
332-333 (1955)
- 14) Sato, Hiroshi u. Deguchi, Tsune : J. Exptl. Med., Tohoku
25, 113-119 (1935)
- 15) Emerson, G. A. : Anästhesia and Analgesia 17, 109-114 (1938)

- 16) Elmes, P.C. u. Jefferson, A.A. : J. Physiol. 101, 355-361 (1942)
- 17) Lipovetskaya, A.J. : Bioklim. Zhur. Ukrain 29, 231-242 (1957)
- 18) Kulins, V.J., Kii : Bioklim. Zhur, Ukrain 25, 278-286 (1953)
- 19) Richardson, J.A., Woods, E.F. u. Richardson, A.K. : J. Pharmakol. Exp. Therapie 119, 378-384 (1957)
- 20) Watts, D.T. : J. Pharmacol. Exp. Therapie 114, 203-210 (1955)
- 21) Price, Henry L. : Clin. Sci. 19, 377-387 (1957)
- 22) Michaelis, Hans F. : Arch. Exp. path. Pharmakol. 201, 580-588 (1943)
- 23) Weil, H.-Malherbe : Congr. internat. biochim. Resunes Communs., 2^e Congr., Paris 67-68 (1952)
- 24) Suzuki, Tatsuji, Saito, Kazuo u. Kobayashi, a. Yoshiakira, Tohoku : Exp. Med. 54, 261-267 (1951)
- 25) Woods, E.F., Richardson, J.A., Richardson, A.K. u. Bozemann, R.F. : J. Pharmacol. Exp. Therapie 116, 351-355 (1956)

Herrn Privatdozent Dr. H. Mathies möchte ich für die Überlassung des Themas und Übernahme des Referates danken.

Herrn Professor Dr. W. Seitz möchte ich für die Genehmigung zur Durchführung der Versuche dieser Arbeit in der Med. Poliklinik herzlich danken.

Herrn Dipl. Math. K. Liebrich danke ich für die Bearbeitung der statistischen Auswertung.

Lebenslauf

Am 27.8.1934 wurde ich in Rafsandjan Provinz Kerman zu Iran geboren. Von 1941 - 1948 war ich Schüler der Volksschule Hedayat in Rafsandjan, wo ich im Juni 1948 das Volksschulabgangszeugnis erlangte. Anschließend kam ich in die Oberschule Hekmat und absolvierte deren 5. Klasse im September 1953. Die 6. Oberschulklasse absolvierte ich im naturwissenschaftlichen Zweig im September 1954 in Oberschule Pahlawi in Kerman. Im November 1955 begann ich das Studium der Medizin in München. Sämtliche Semester verbrachte ich an der Universität München. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 23.10.1958, das ärztliche Staatsexamen am 29. Januar 1963.

